

	PROTAP Cara Pengoperasian Alat HPLC 7 Agilent 1260 Series	No : PPB085
		Revisi : 03
		Berlaku : 20 JUL 2020
		Paraf : 

1 Tujuan

Agar setiap pemakaian menggunakan cara yang benar, sehingga didapatkan hasil analisa yang akurat dan kerusakan alat karena salah pengoperasian dapat dihindari.

2 Cakupan

Protap ini sebagai panduan untuk melakukan pengopersian dan integrasi data alat HPLC Agilent 7 di laboratorium pengawasan mutu.

3 Penanggung Jawab

Penanggung jawab protap ini adalah Supervisor Pengujian Bahan Awal dan Bahan Kemasan.

4 Prosedur

4.1 Pastikan label kalibrasi masih berlaku, bila sudah kadaluwarsa laporkan kepada petugas kalibrasi untuk dikalibrasi.

4.2 Pembuatan Username



- 4.2.1 Pada tampilan desktop komputer masuk keaplikasi OpenLAB Control Panel.
- 4.2.2 Masuk dengan *Login* : administrator dan *password* : Password@123
- 4.2.3 Klik administration pada pilihan panel sebelah kiri, kemudian buat username untuk supervisor dan analis
- 4.2.4 Pilih *user*, lalu klik *Create*
- 4.2.5 Isi *Name*, *Description* dan *Password* sesuai data masing – masing user.
- 4.2.6 Pilih *Group Membership*, user masuk dalam klasifikasi supervisor atau analis.
- 4.2.7 Lalu pilih *Role Membership* sesuai group membership.
- 4.2.8 Klik OK

4.3 Menghidupkan HPLC

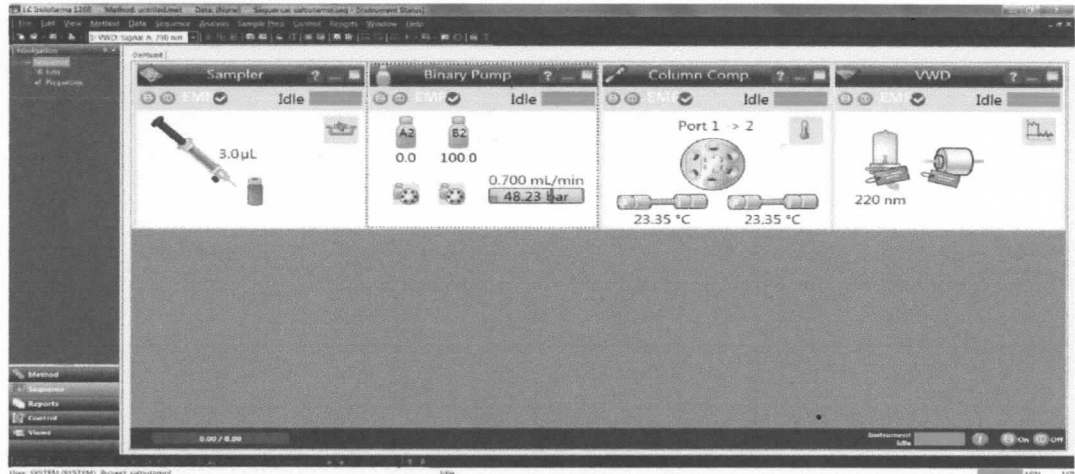
- 4.3.1 Hidupkan UPS (*Uninterruptible Power Supply*).
- 4.3.2 Hidupkan komputer dan monitor komputer.
- 4.3.3 Hidupkan alat HPLC dengan cara menekan tombol power pada kiri bawah HPLC.
- 4.3.4 Pada tampilan desktop komputer masuk keaplikasi OpenLAB Control Panel.
- 4.3.5 User masuk menggunakan username dan password masing – masing.
- 4.3.6 Kemudian klik project pada pilihan panel sebelah kiri, kemudian buat folder baru atau pilih folder yang dituju bila sudah ada.
- 4.3.7 Buat nama *file* baru, bila belum memiliki *Project* kemudian simpan dan klik OK.
- 4.3.8 Pilih Instrument pada pilihan panel sebelah kiri, kemudian klik *Browse* untuk memilih *Project* yang telah dibuat.
- 4.3.9 Klik *Launch* untuk membuka sistem *Online* HPLC.
- 4.3.10 Klik *Launch Offline* untuk membuka sistem *Offline* HPLC.

4.4 Mengkondisikan HPLC

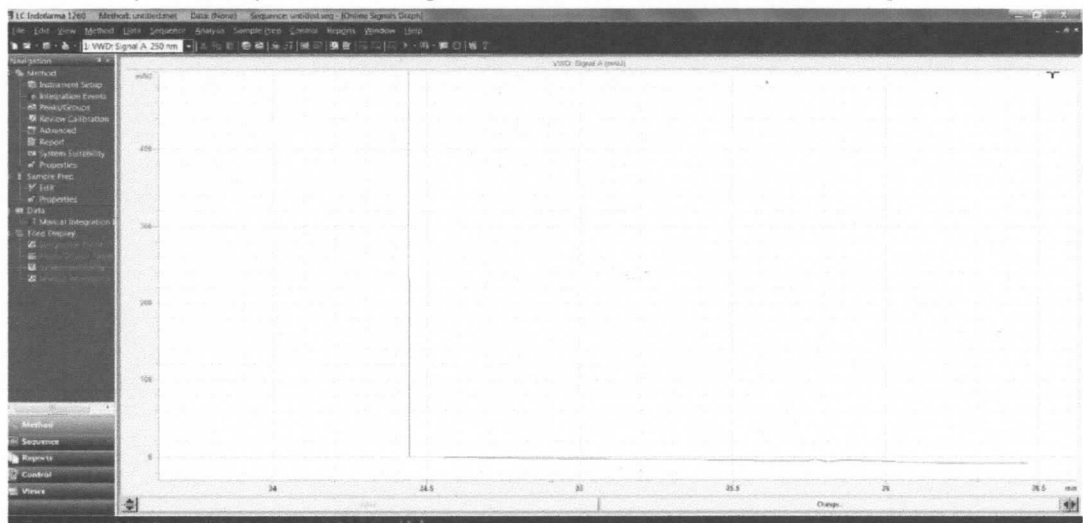
- 4.4.1 Buka Instrument status dari panel *Control*, hidupkan semua modul alat yang terkoneksi kekomputer dengan mengklik tombol ON.

 indofarma	PROTAP Cara Pengoperasian Alat HPLC 7 Agilent 1260 Series	No : PPB085
		Revisi : 03
		Berlaku : 20 JUL 2020
		Paraf : 



- 4.4.2 Semua modul alat yang terhubung akan ditandai dengan lampu warna hijau bertuliskan *Idle* dan bila ada masalah koneksi akan ditandai lampu warna merah bertuliskan *Error*.



- 4.4.3 Buka *Purge Valve* dengan memutarinya ke kiri, nyalakan pompa dengan cara klik kanan pada *binary pump* lalu pilih *Method*, klik pada tulisan *flow*, naikan secara bertahap (0.00; 0.10; 0.25; 0.50; 0.75; 1.00; 1.25; 1.50; 1.75; 2.00 ml/min).
- 4.4.4 Biarkan mengalir selama lebih kurang 5 menit, kemudian turunkan *flow* sampai 0.2, kemudian tutup kembali *Purge Valve* (tekanan akan naik).
- 4.4.5 Naikkan *flow* secara bertahap hingga tercapai *flow* sesuai dengan metode.
- 4.4.6 Apabila akan menambah atau mengganti fase gerak, turunkan *flow* secara bertahap.
- 4.4.7 Ubah tampilan isi botol solven dengan cara klik 2 kali pada botol A atau botol B
- 4.4.8 Biarkan sistem berjalan hingga stabil. Untuk dapat melihat sistem telah stabil dapat dilihat pada *Online signal*. Pilih view kemudian klik *Online Signal*.



- 4.4.9 Kemudian nyalakan pompa tambahan untuk membilas *Sea/* pada piston pompa.
- 4.4.10 Sebelumnya pastikan dahulu botol pencuci berisi air yang diberi 10 % methanol.

	PROTAP Cara Pengoperasian Alat HPLC 7 Agilent 1260 Series	No : PPB085
		Revisi : 03
		Berlaku : 20 JUL 2020
		Paraf : 

4.4.11 Kemudian nyalakan pencuci *Seal Wash* yaitu dengan cara klik kanan pada *Instrument Status* yang *Binary Pump* kemudian pilih *Control* kemudian pilih opsi yang ada sesuai dengan kebutuhan. Kemudian klik OK.

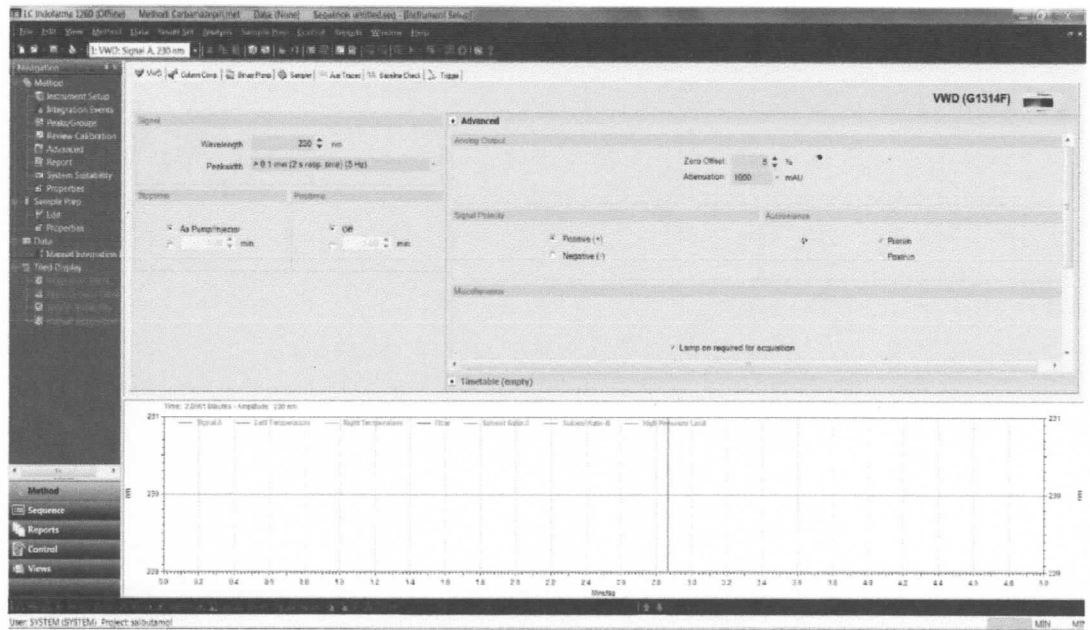
4.4.12 Bila telah selesai matikan kembali pompa tambahan ini dengan cara yang sama pada saat membuka tadi.

4.5 **Membuat Metode Baru**

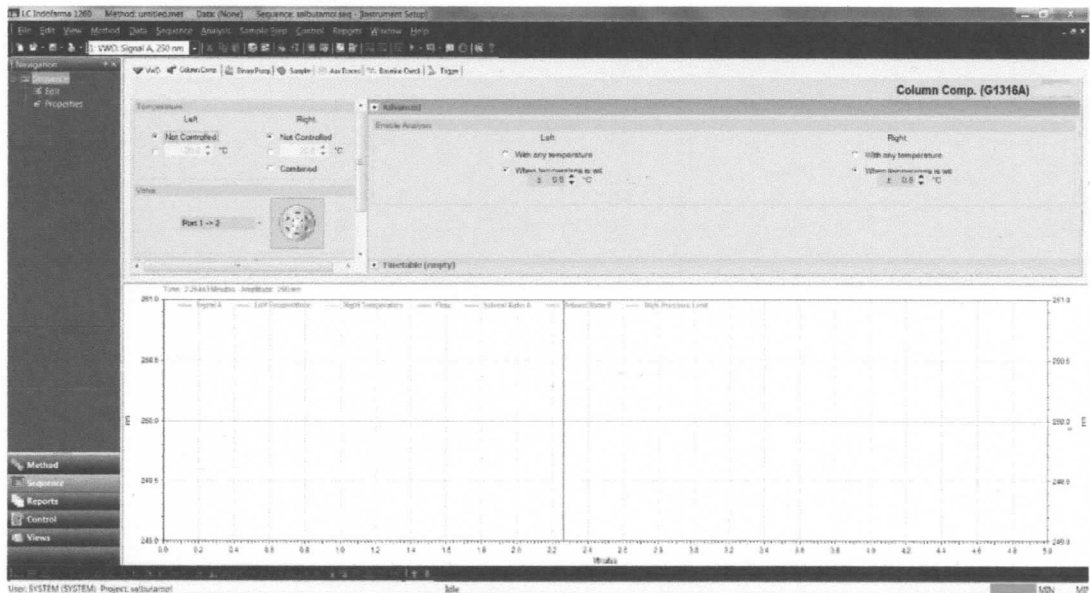
4.5.1 Klik *file* kemudian klik *New* kemudian pilih *Method*.



4.5.2 Kemudian isikan parameter yang sesuai dengan kebutuhan.

4.5.3 Pada panel *WWD* : isi kolom *Wavelength*

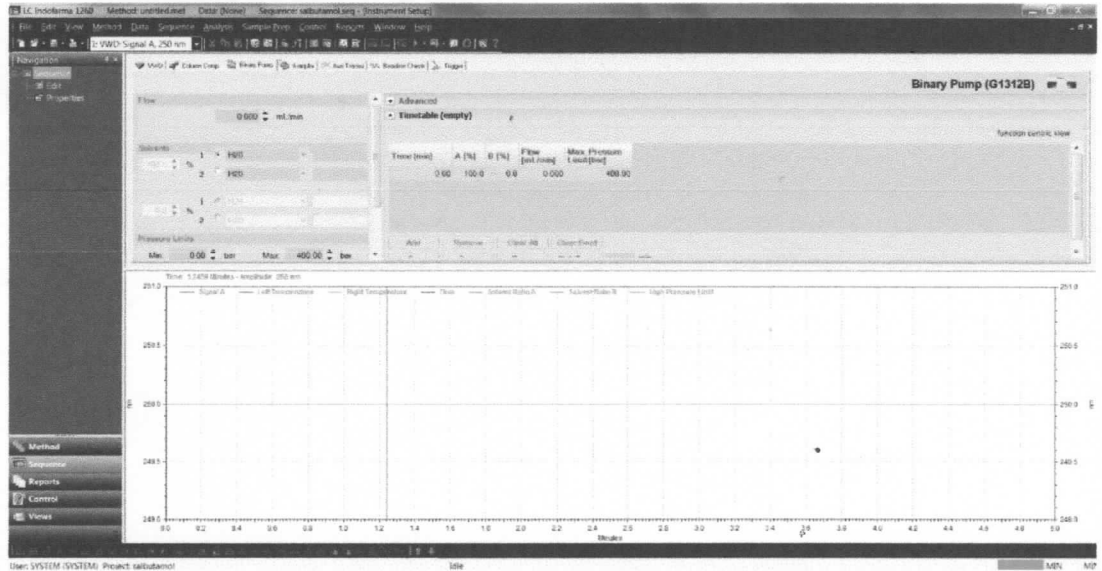


4.5.4 Pada panel *Column Comp* : isi kolom temperatur *Left* dan *Right*, kemudian pilih *valve* yang akan digunakan.

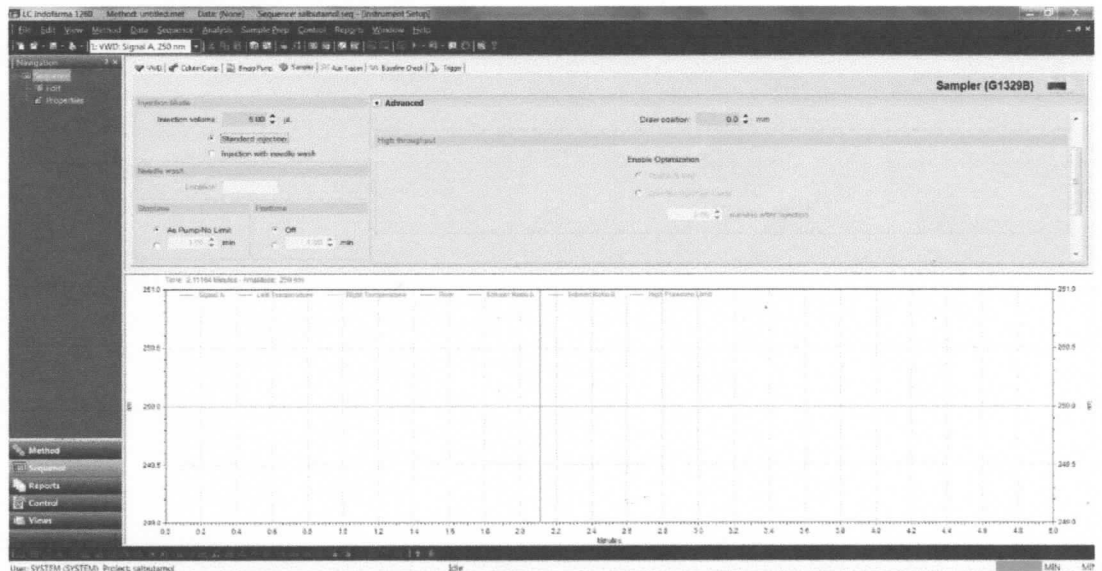


	PROTAP Cara Pengoperasian Alat HPLC 7 Agilent 1260 Series	No : PPB085
		Revisi : 03
		Berlaku : 20 JUL 2020
		Paraf : 

4.5.5 Pada panel Binary Pump : isi kolom *flow*, *solvent*, *pressure limits*, isi *timetable* bila akan menggunakan metode gradien.





4.5.6 Pada panel Sampler : isi kolom *Injection volume*, *Needle wash*, dan *stop time*. Tambahkan *Advanced* isi *Enable Optimization*. Pilih *Overlap Injection Cycle* isi kolom *Minutes after Injection*.



- 4.5.7 Pilih method, lalu klik Properties, lalu isi audit trail untuk menghidupkan audit trail,
- 4.5.8 Bila telah semua parameter terisi simpan pada folder *method* kemudian berikan nama metode.

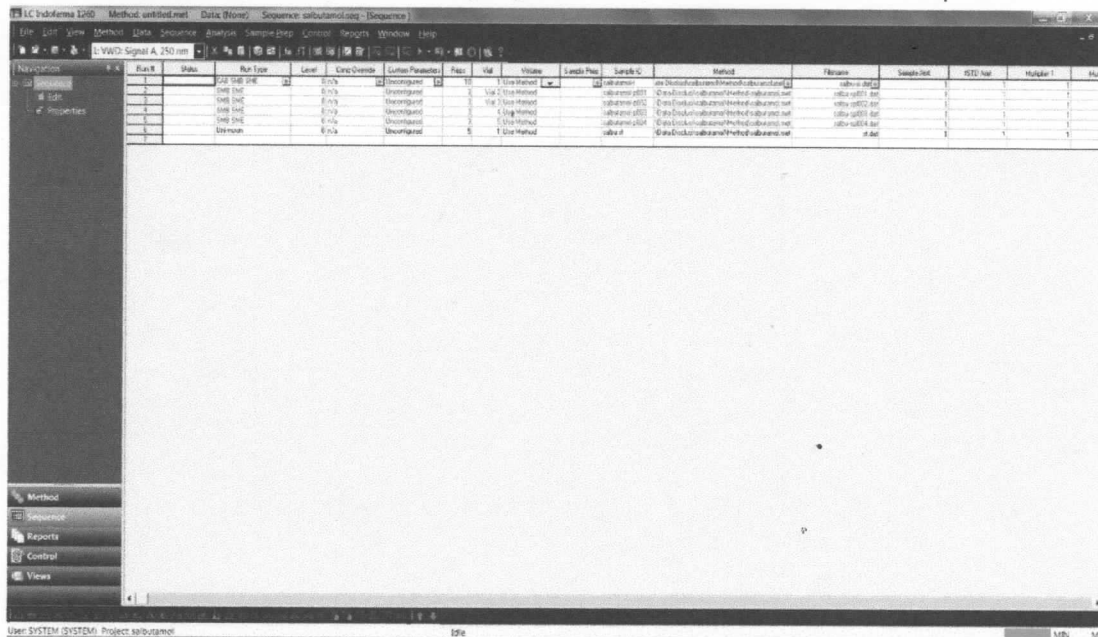
4.6 **Membuat Sequence**

- 4.6.1 Klik *file* kemudian *New* pilih *Sequence* kemudian klik OK
- 4.6.2 Isikan kolom sequence yaitu *Run type*, *Level*, *Reps*, *Vial*, *Volume*, *Sample ID*, *Method*, *File Name*, sesuai kebutuhan.

	PROTAP Cara Pengoperasian Alat HPLC 7 Agilent 1260 Series	No : PPB085
		Revisi : 03
		Berlaku 20 JUL 2020
		Paraf : 

4.6.3 Tambahkan baris sequence sesuai kebutuhan.

4.6.4 Simpan sequence pada folder yang telah ada, kemudian beri nama sequence.



4.7 Menggunakan Metode yang Telah Ada

4.7.1 Pilih menu *file*, lalu pilih *Open* lalu klik *method*.



4.7.2 Pilih metode yang akan digunakan pada folder yang ada.

4.7.3 Bila ada perubahan metode maka perubahan hanya dilakukan / disapproved oleh supervisor, kemudian simpan kembali metode yang telah direvisi.

4.7.4 Setelah disimpan klik *control* pilih *Download Method*. Metode siap untuk digunakan.


4.8 Menginjeksi Sample (Single Run)

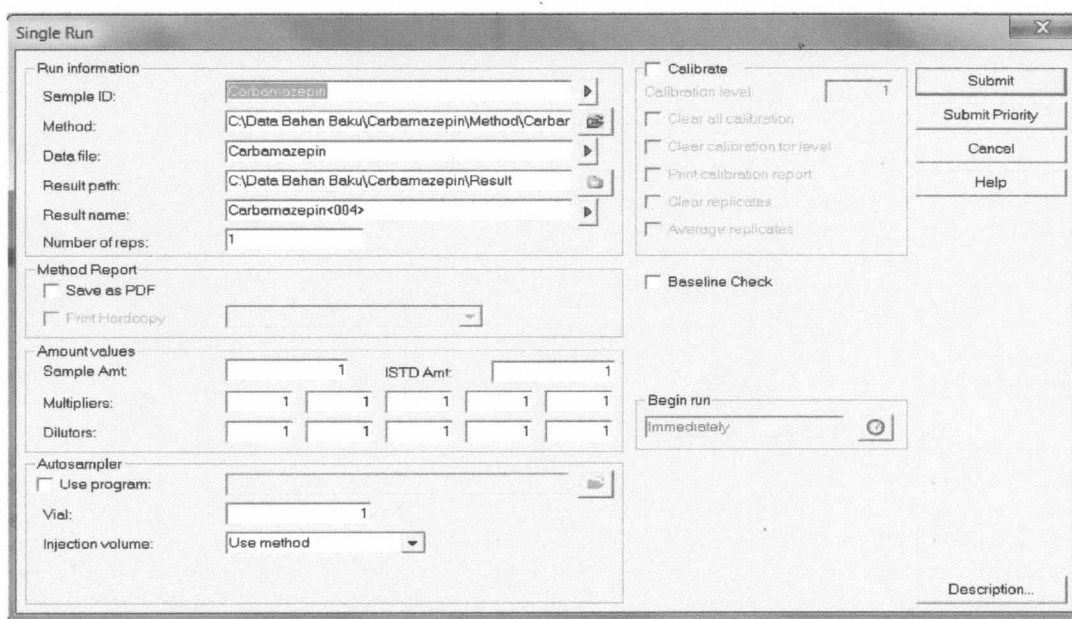
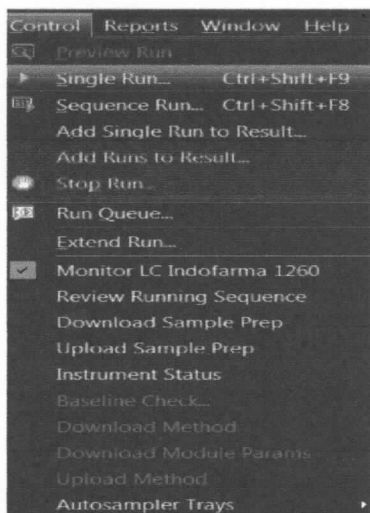
4.8.1 Sebelum menginjeksi sampel pastikan tray telah terisi *vial* khusus yang berisi larutan standar dan sampel yang akan dianalisa.

4.8.2 Klik tanda *single run*  atau klik *control* pada *menu bar*, kemudian pilih *single run*  kemudian isi kolom-kolom yang ada pada tampilan *Single run*. yaitu *Sample ID*, *Method file*, *Data File*, *Result Path*, *Result Name*, *Number of Reps*, *Vial*, *Calibrate* (jika diperlukan), sesuai dengan kebutuhan.



4.8.3 Kemudian klik start. Maka sistem HPLC akan berjalan sesuai dengan metode yang di *download* sebelumnya.



4.8.4 Apabila akan menjalankan kembali *single run* tetapi proses di sistem belum selesai, hal ini dapat dilakukan setelah selesai mengisi kolom-kolom yang ada kemudian klik *submit* atau *submit priority* sesuai kebutuhan.

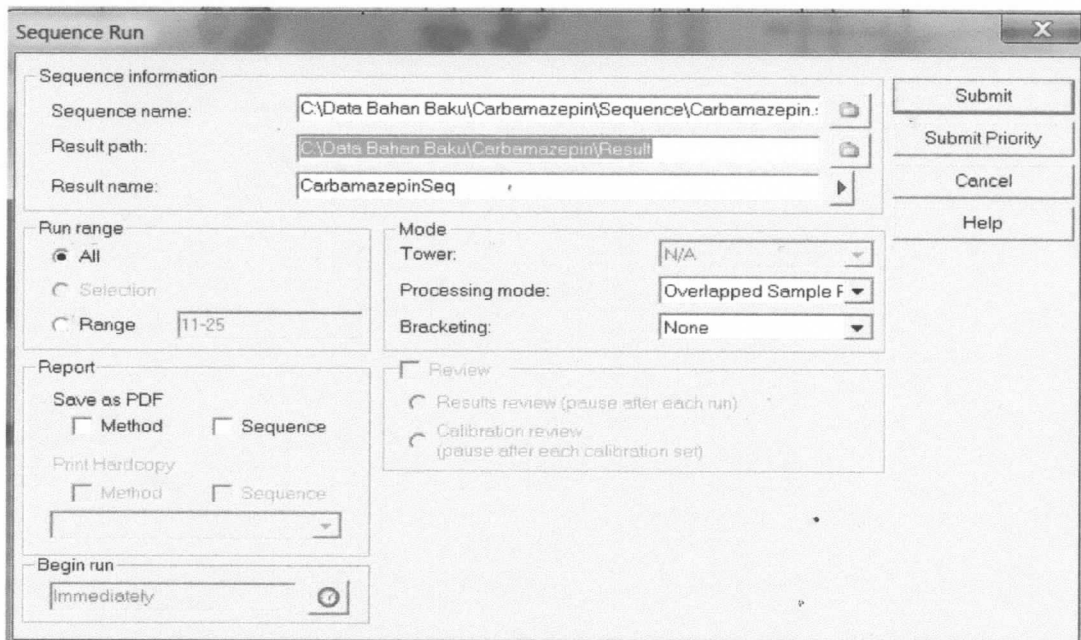
	PROTAP Cara Pengoperasian Alat HPLC 7 Agilent 1260 Series	No : PPB085
		Revisi : 03
		Berlaku : 20 JUL 2020
		Paraf : 



4.9 Menginjeksi Sample (Sequence run)

- 4.9.1 Sebelum menginjeksi sampel pastikan tray telah terisi *vial* khusus yang berisi larutan standar dan sampel yang akan dianalisa.
- 4.9.2 Klik tanda *sequence run*  atau klik *control* pada *menu bar*, kemudian pilih *sequence run*  kemudian isi kolom-kolom yang ada pada tampilan *Sequence run*. yaitu *Sequence name*, *Result Path*, *Result Name*, kemudian pilihan *Run range* (*All*, *Selection* atau *range*) sesuai dengan kebutuhan.
- 4.9.3 Kemudian klik start. Maka sistem HPLC akan berjalan sesuai dengan metode yang di *download* sebelumnya.
- 4.9.4 Apabila akan menjalankan kembali *sequence run* tetapi proses di sistem belum selesai, hal ini dapat dilakukan setelah selesai mengisi kolom-kolom yang ada kemudian klik *submit* atau *submit priority* sesuai kebutuhan.

	PROTAP Cara Pengoperasian Alat HPLC 7 Agilent 1260 Series	No : PPB085
		Revisi : 03
		Berlaku : 20 JUL 2020
		Paraf : 



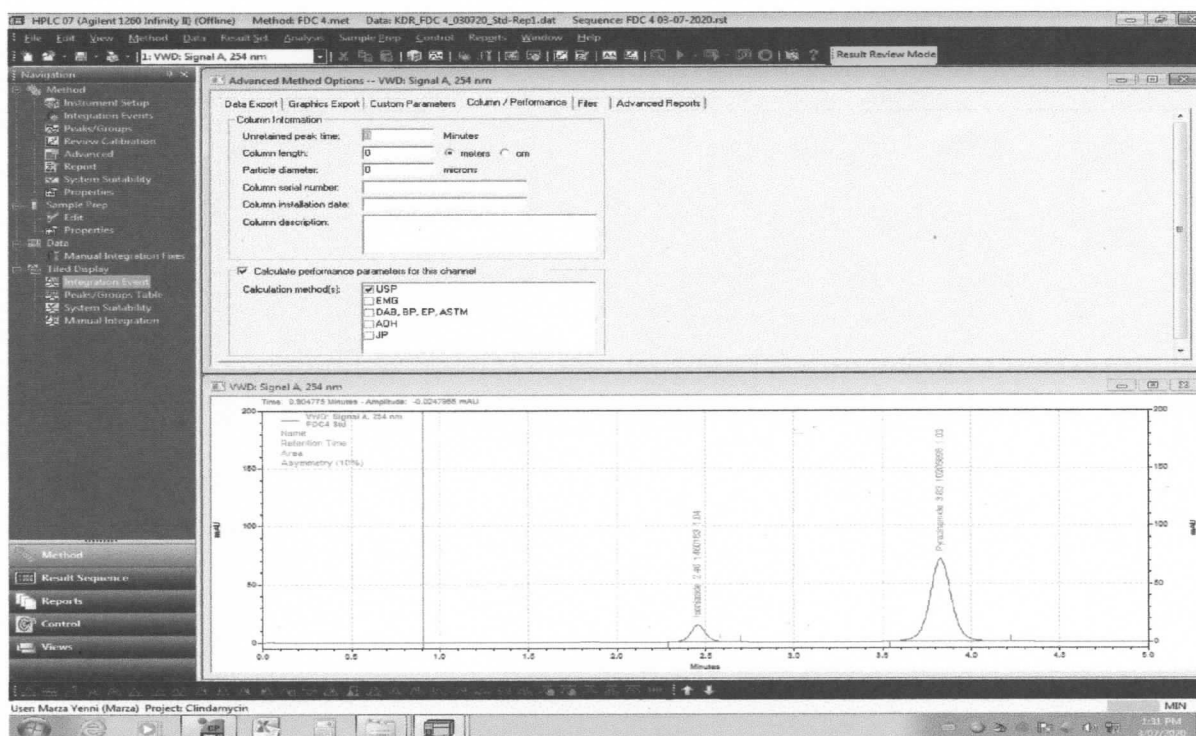
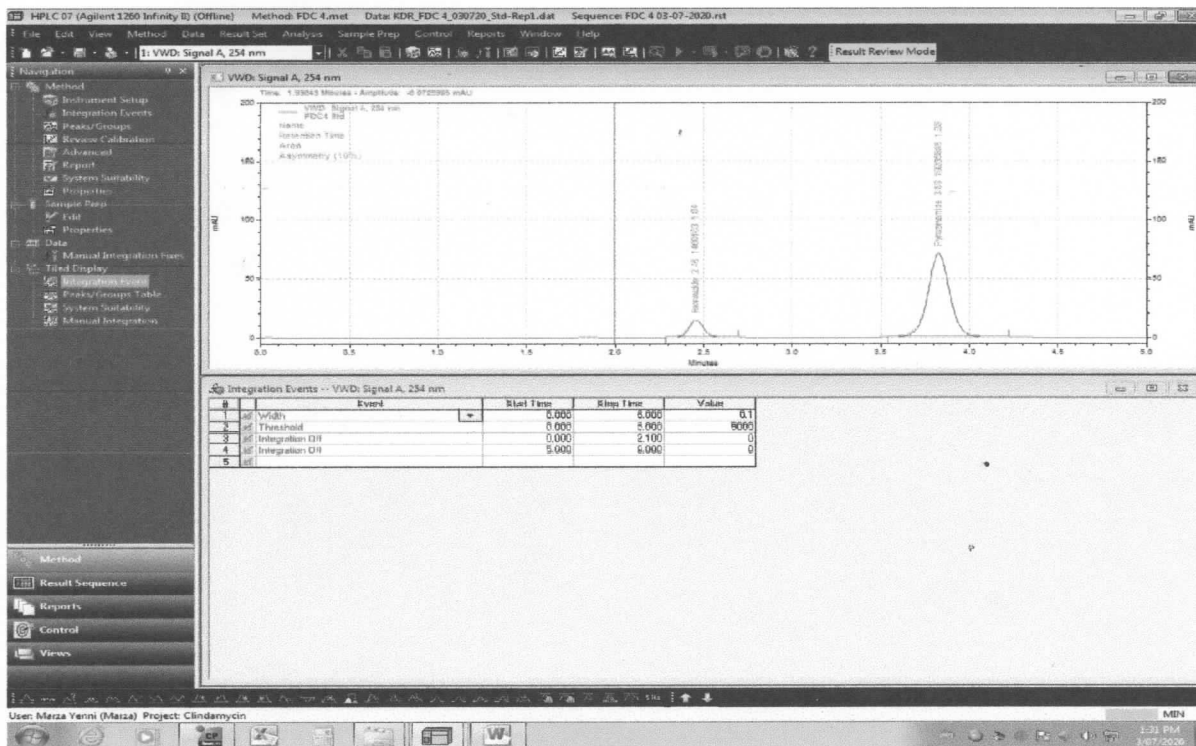
4.10 Menganalisa Data Standar dan Sampel



- 4.10.1 Pada tampilan sistem *openLAB Offline* lakukan pemanggilan metode dengan cara klik *file*, lalu pilih *open* lalu pilih *method*.
- 4.10.2 Panggil data yang akan menjadi standar dengan cara klik *file* lalu pilih *open* lalu pilih data.
- 4.10.3 Definisikan *peak* dengan cara klik *define peak* pada menu bagian bawah (atau buka dengan cara klik kanan pada kromatogram pilih *Graphical programming* pilih *define peak*) klik *start* dan *end peak* yang diinginkan, setelah dibuka isi kolom-kolom yang tersedia sesuai kebutuhan. kemudian klik *Peak Group Table* beri nama *peak* kemudian simpan kedalam metode.
- 4.10.4 Untuk menganalisa data dapat dilakukan dengan cara klik *method*, lalu pilih *integration event*, kemudian atur *width*, *threshold*, *shoulder sensitivity* dan lain-lain sesuai kebutuhan kemudian klik *analysis* pilih *Analyze*, lalu simpan kedalam metode.
- 4.10.5 Untuk mengetahui performa kolom terkait dengan asimetri dapat ditambahkan dengan cara klik *Method* lalu pilih *Advanced*. Isi pada *Column Information* kemudian centang pada *calculate Performance Parameters* dan juga centang pada *Calculation Method* pilih *USP / EMG / BP / JP*.



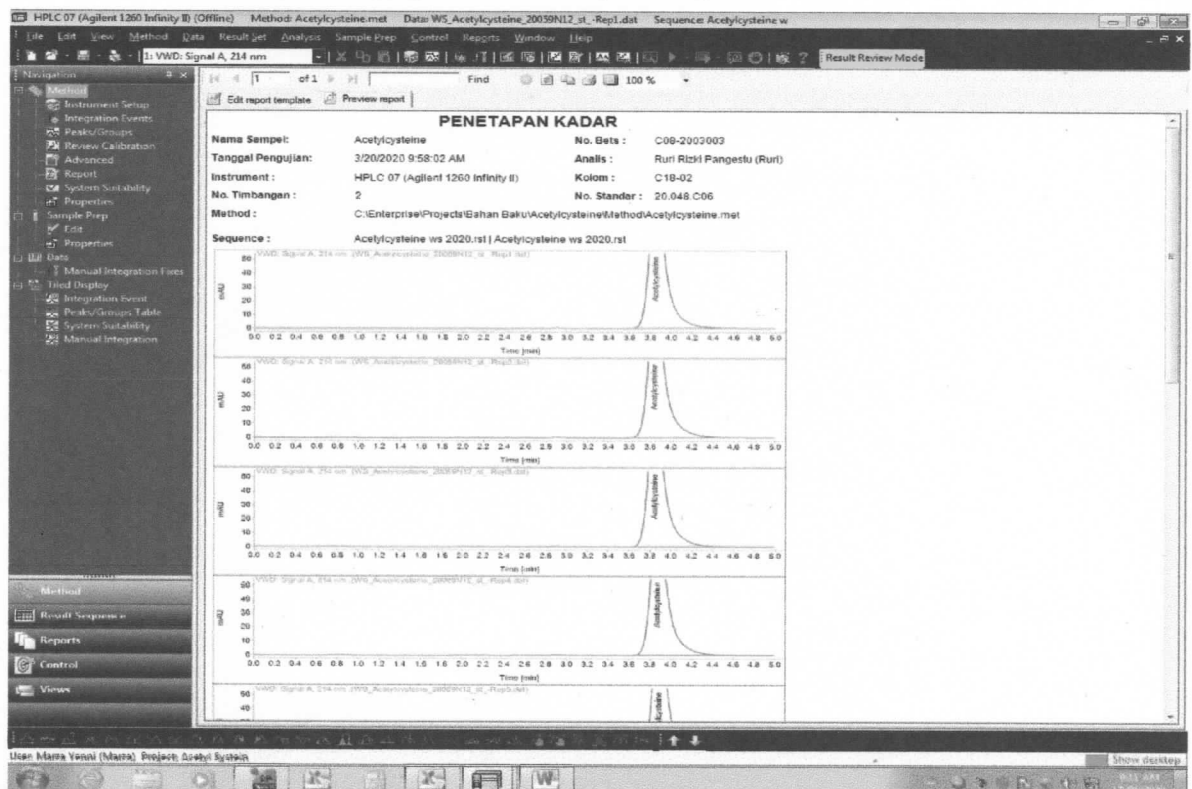
PROTAP
 Cara Pengoperasian Alat HPLC 7 Agilent
 1260 Series

No : PPB085
 Revisi : 03
 Berlaku : 20 JUL 2020
 Paraf : ↓



	PROTAP Cara Pengoperasian Alat HPLC 7 Agilent 1260 Series	No : PPB085
		Revisi : 03
		Berlaku : 20 JUL 2020
		Paraf : 

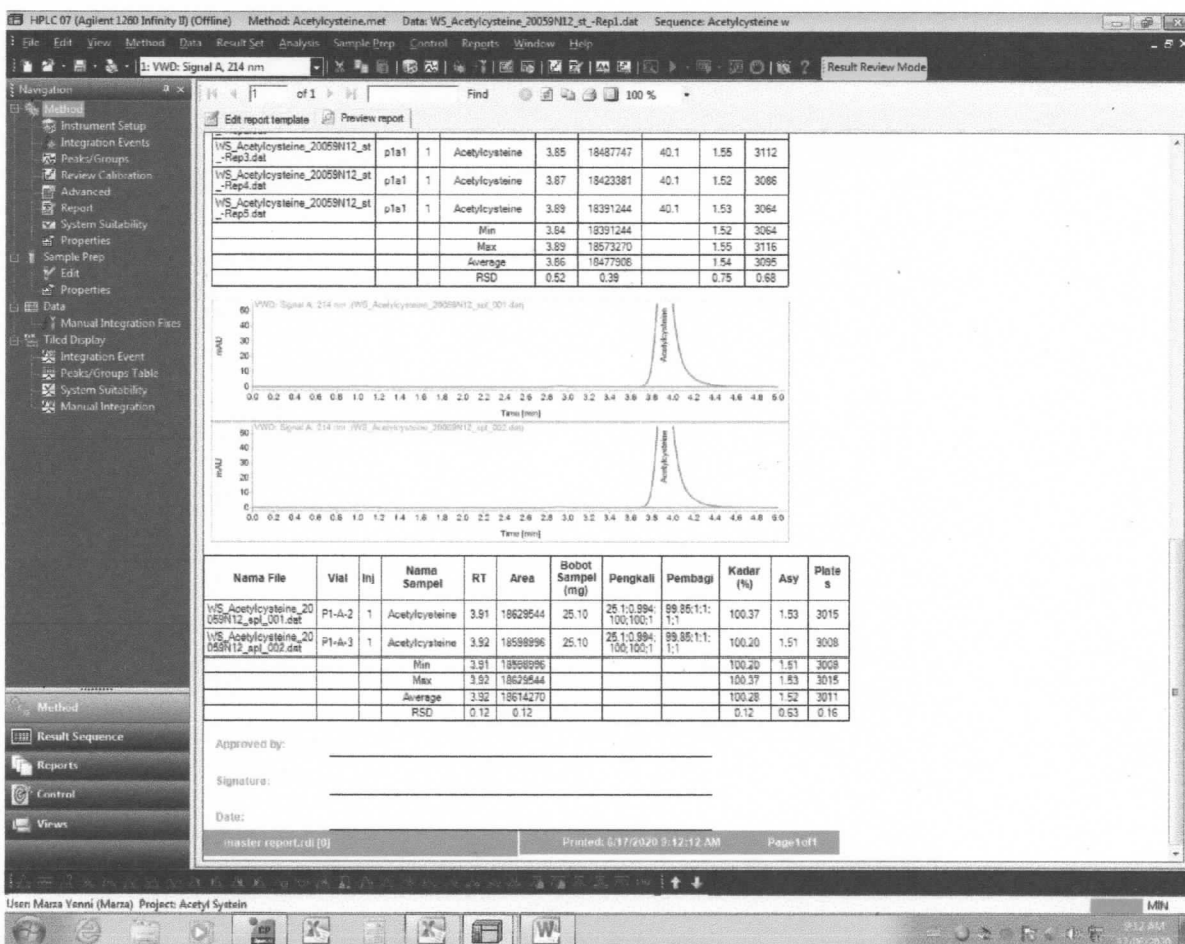
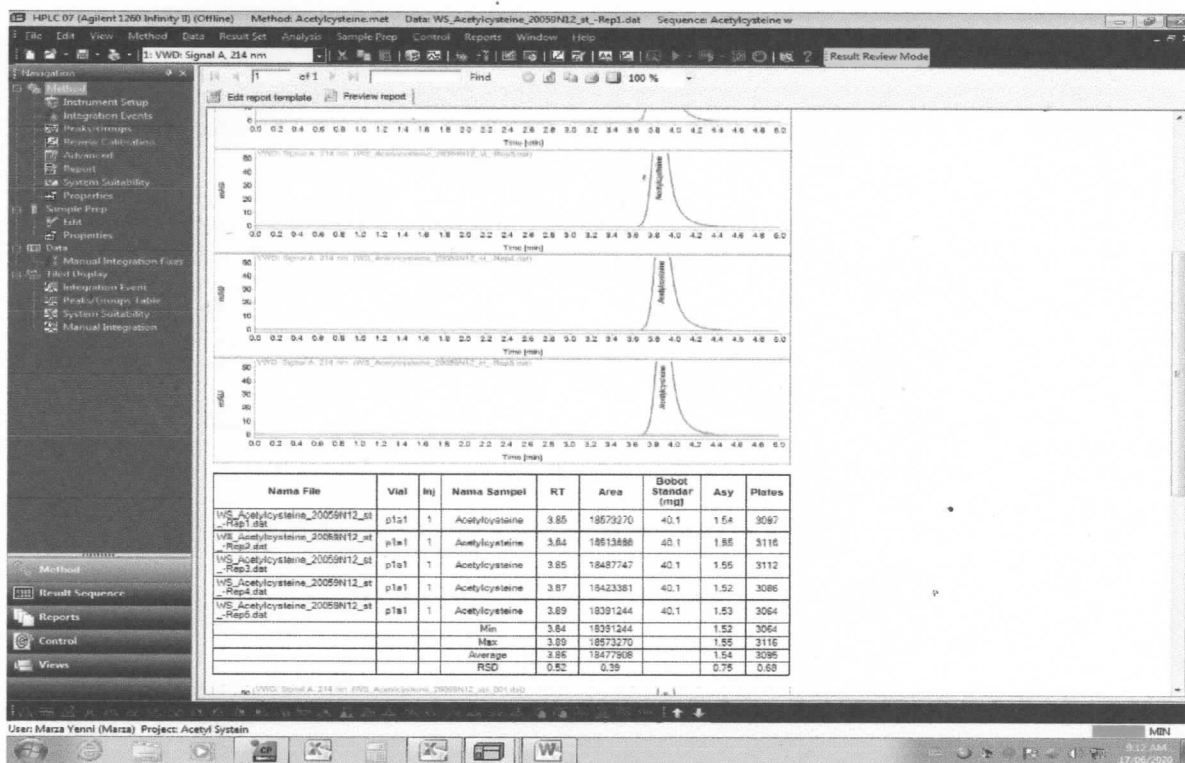
- 4.10.6 Untuk data standar yang akan digunakan sebagai data kalibrasi (cara membuka data standar sama seperti di jelaskan sebelumnya). Setelah peak diberi nama, masukkan konsentrasi standar di kolom level.
- 4.10.7 Klik *Analysis* lalu *Analysis / Single Level Calibration* isi kolom data :
- Method* (pilih method yang ingin di kalibrasi)
 - Data path* (pilih *data path* tempat data standar)
 - Data file* (pilih *data file* standar yang ingin di kalibrasi)
 - Centang *Calibrate*
 - Tulis *Calibration level 1*
 - Centang *Clear all calibration*
- 4.10.8 Untuk level selanjutnya ulangi perlakuan no 4.8.2 hanya pada *calibration level no.2* dan seterusnya *Clear all Calibration* tidak perlu di centang lagi.
- 4.10.9 Lihat *review calibration* untuk melihat linearitas standar.
- 4.10.10 Simpan metode dengan cara klik file lalu *method* dan *save*.
- 4.10.11 Untuk melihat data sampel sama dengan data standar yaitu dengan cara klik *file* lalu pilih *open* lalu pilih data sampel.
- 4.10.12 Klik *Report* lalu *view* untuk melihat perhitungan berdasarkan ESTD, ISTD atau yang lainnya.
- 4.11 **Mencetak Hasil Data Standar dan Sampel**
- 4.11.1 Setelah semua data selesai dianalisa, buka *report* kemudian pilih *File* lalu *Open* pilih *Standar report* atau *Intelligent Report* pilih *template*. Klik *template* yang diinginkan.
- 4.11.2 Jika menggunakan template *Intelligent Report*, maka diperlukan mengisi beberapa data, yaitu nomor bets produk, nomor kolom, nomor kontrol standar, faktor standar, nomor timbangan, bobot penimbangan standar dan bobot penimbangan sampel yang digunakan dalam perhitungan.







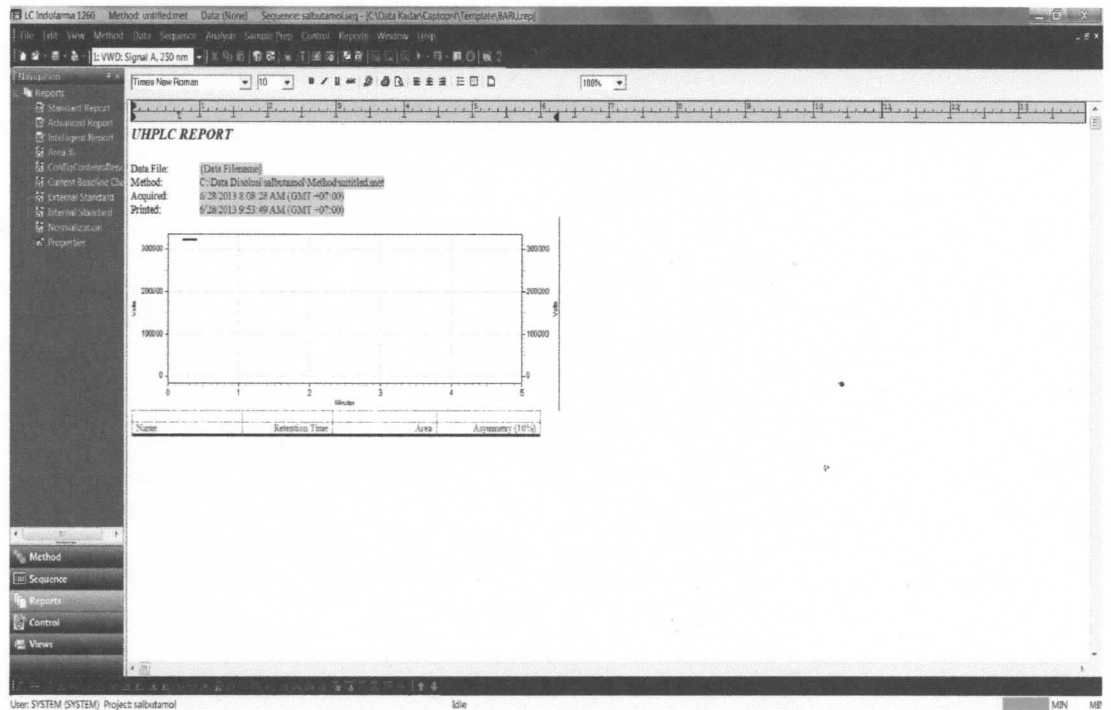
PROTAP
 Cara Pengoperasian Alat HPLC 7 Agilent
 1260 Series

No : PPB085
 Revisi : 03
 Berlaku : 20 JUL 2020
 Paraf : *[Signature]*

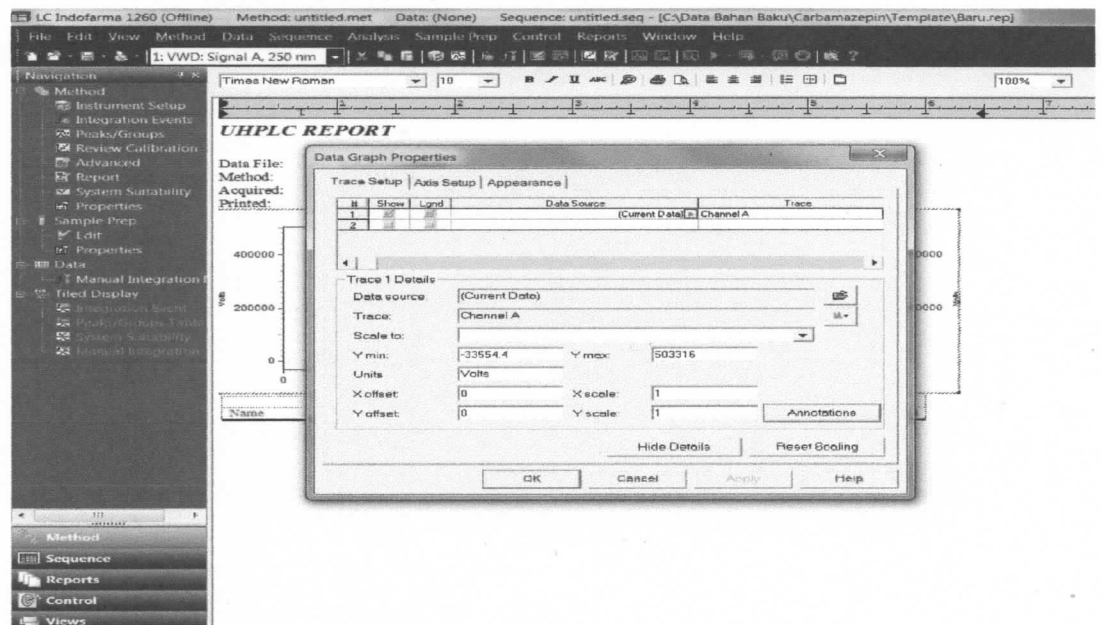




	PROTAP Cara Pengoperasian Alat HPLC 7 Agilent 1260 Series	No : PPB085
		Revisi : 03
		Berlaku : 20 JUL 2020
		Paraf : 

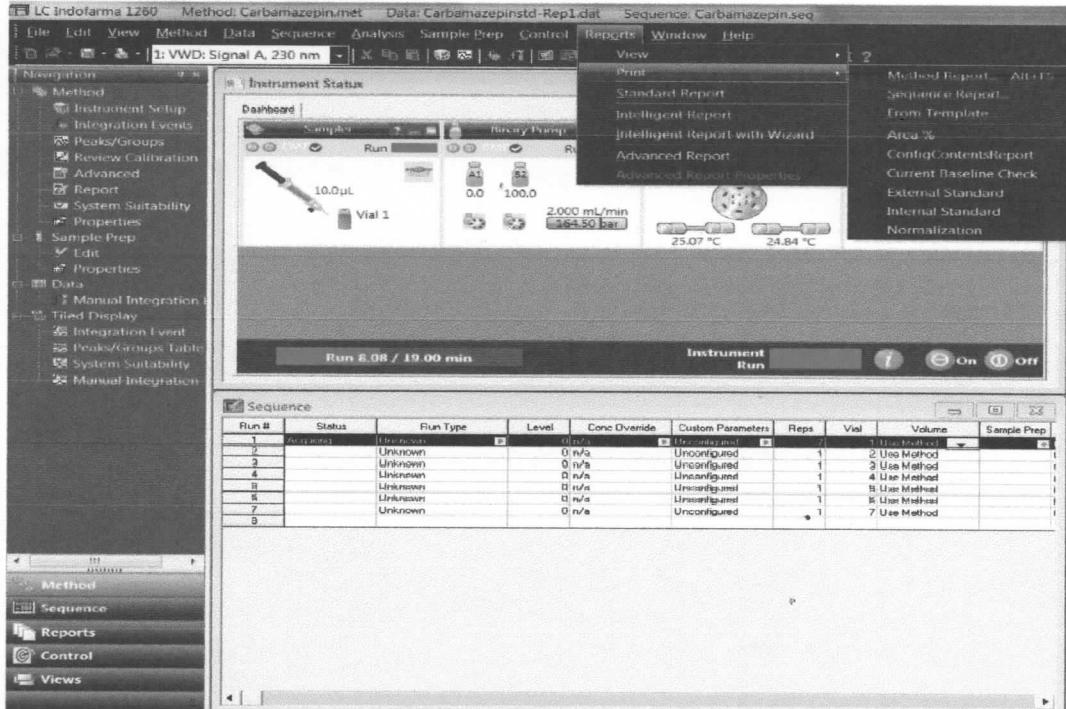
4.11.3 Untuk menampilkan identitas data pada peak dapat dilakukan dengan cara klik 2 kali pada kromatogram lalu atur *axis setup*, *Annotation*, *Appearance*. Setelah selesai klik *Apply* dan *OK*. Kemudian simpan *template* tersebut klik *file* pilih *save as* lalu pilih *Standar Report* beri nama *template* tersebut.



4.11.4 Setelah selesai hasil dapat diprint dengan cara klik *Report* lalu *Print* lalu *From template* pilih *template* yang telah dibuat tadi lalu klik *OK*.



	PROTAP Cara Pengoperasian Alat HPLC 7 Agilent 1260 Series	No : PPB085
		Revisi : 03
		Berlaku : 20 JUL 2020
		Paraf : 





Run #	Status	Run Type	Level	Conc Override	Custom Parameters	Reps	Vial	Volume	Sample Prep
1	Completed	Unknown	0	n/a	Unconfigured	1	1	Use Method	
2	Unknown	Unknown	0	n/a	Unconfigured	1	2	Use Method	
3	Unknown	Unknown	0	n/a	Unconfigured	1	3	Use Method	
4	Unknown	Unknown	0	n/a	Unconfigured	1	4	Use Method	
5	Unknown	Unknown	0	n/a	Unconfigured	1	5	Use Method	
6	Unknown	Unknown	0	n/a	Unconfigured	1	6	Use Method	
7	Unknown	Unknown	0	n/a	Unconfigured	1	7	Use Method	
8	Unknown	Unknown	0	n/a	Unconfigured	1	8	Use Method	

4.12 Mematikan HPLC

- 4.12.1 Setelah selesai analisa, sebelum HPLC dimatikan sebaiknya alat dan kolom dicuci dengan cara dialiri dengan air dan Methanol / Acetonitril selama lebih kurang 15 menit untuk kolom yang panjangnya 5 cm. Dan lebih kurang 45 menit untuk kolom yang panjangnya 15 cm, dengan *flow* 1 ml / menit.
- 4.12.2 Turunkan *flow* sampai dengan 0.0 ml/ menit secara bertahap.
- 4.12.3 Pindahkan selang pompa ke botol yang berisi air dan campuran Methanol / Acetonitril buka *Purge Valve* dengan memutarinya kekiri, nyalakan pompa dengan cara klik kanan pada *binary pump* lalu pilih *Method*, klik pada tulisan *flow*, naikan secara bertahap (0.00; 0.10; 0.25; 0.50; 0.75; 1.00; 1.25; 1.50; 1.75; 2.00 ml/min).
- 4.12.4 Biarkan mengalir selama lebih kurang 5 menit, kemudian turunkan *flow* sampai 0.0, kemudian tutup kembali *Purge Valve*.
- 4.12.5 Naikkan *flow* secara bertahap hingga tercapai *flow* 1.0 ml / menit
- 4.12.6 Biarkan alat tersebut dibilas hingga selesai sampai waktu yang ditentukan.
- 4.12.7 Kemudian setelah selesai klik tombol OFF pada tampilan Instrument status, semua modul alat akan mati, kemudian tutup program EzChrom Elite.
- 4.12.8 Matikan semua tombol alat dengan cara menekan tombol power pada kiri bawah HPLC.
- 4.12.9 Matikan (*Shut Down*) komputer dan monitor.
- 4.12.10 Keluarkan semua vial yang terdapat dalam *tray* kemudian cuci hingga bersih.
- 4.12.11 Bersihkan dan rapikan alat, catat semua kegiatan pemakaian alat dalam buku Catatan Harian Pemakaian Alat HPLC Agilent 6.

5 Pustaka

Buku panduan penggunaan Alat HPLC Agilent 1260 Infinity.

	PROTAP Cara Pengoperasian Alat HPLC 7 Agilent 1260 Series	No : PPB085
		Revisi : 03
		Berlaku : 20 JUL 2020
		Paraf : 

6 Catatan Perubahan

Revisi	Berlaku	Perubahan
02	01 OKT 2019	1. Perubahan pada <i>header</i> dan logo perusahaan.
03	20 JUL 2020	1. Perubahan pada prosedur dengan menambahkan no. 4.11.2 "Jika menggunakan <i>template Intelligent Report</i> , maka diperlukan mengisi beberapa data, yaitu nomor <i>bets produk</i> , nomor kolom, nomor kontrol standar, faktor standar, nomor timbangan, bobot penimbangan standar dan bobot penimbangan sampel yang digunakan dalam perhitungan."

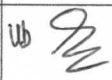

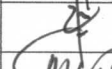
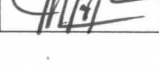
7 Tinjauan Ulang

Metode Analisis ini akan ditinjau ulang setiap 2 tahun (atau kurang jika perlu) oleh Manajer Pengawasan Mutu dan Manajer Pemastian Mutu.


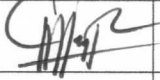
8 Distribusi

- 8.1 Bidang Pengawasan Mutu
- 8.2 Bidang Pemastian Mutu

9 Pengesahan

Keterangan	Jabatan	Kode Bidang	Tanda tangan	Tanggal
Disusun oleh	Supervisor Pengujian Bahan Awal dan Bahan Kemasan	AM		15 JUL 2020
Diperiksa oleh	Asman Pengujian Bahan Awal dan Produk	AM		15 JUL 2020
Disetujui oleh	Manajer Pengawasan Mutu	PM		15 JUL 2020
	Manajer Pemastian Mutu	AM		15 JUL 2020

10 Tinjauan

No.	Peninjau	Tgl. Tinjauan	Tanda tangan	Rekomendasi
1.	Manajer Pengawasan Mutu	15 Jul 22		Protap Masih Sesuai
	Manajer Pemastian Mutu	01 Agt 2020		masih sesuai
2.	Manajer Pengawasan Mutu			
	Manajer Pemastian Mutu			